

広告企画

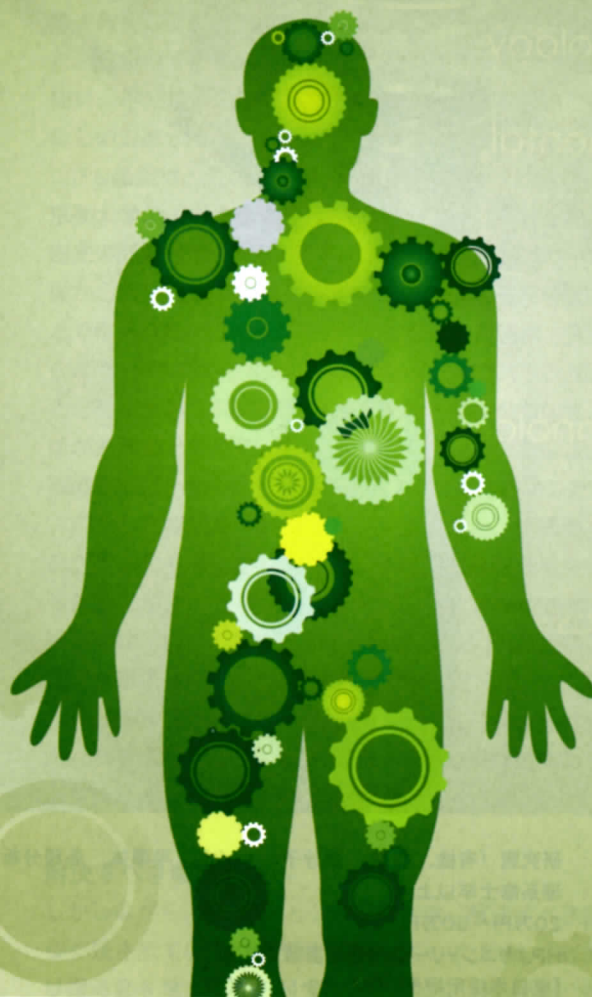
# nature

## 日本語版 FOCUS

### 再生医療実現に向けて

#### 幹細胞研究の課題と展望

研究者のみならず、患者をはじめとする一般市民からも注目を集めている再生医療。細胞や組織の材料として想定されるのは「幹細胞」である。よく知られるのはES細胞（胚性幹細胞）だが、不妊治療の際の余剰な受精卵から作製されるため、倫理的な問題が付きまとう。そこに登場したのが、体細胞由来のiPS細胞（人工多能性幹細胞）だ。ES細胞のような問題がないため、臨床応用の切り札として期待が高まっている。一方で、生体内の組織や器官に存在する組織幹細胞を用いた研究も進められている。今回の日本語版 FOCUS では、iPS細胞、ES細胞、組織幹細胞の研究の最前線を追い、同時に克服すべき課題や実用化へのカギを探る。





大の問題となっている。この点が、ヒト ES 細胞の樹立から既に 10 年以上を経ながら、いまだに実用化に至っていない要因ともなっている。例えば米国では、肯定派のクリントン政権は巨額の国家資金を投入したものの、続く否定派のブッシュ政権は大幅に削減、オバマ政権になってやや復活してきているといった迷走状況にある。日本においては、前述の指針に従い、「ヒト ES 細胞の利用は基礎研究に限定」、「人体への臨床研究は禁止」、「株を樹立できる機関を限定し、必要に応じて配布」、といった厳しい条件が課せられたうえで研究が進められている。

また、ヒト ES 細胞株の樹立が技術的に非常に難しい、再生医療に使えるレベルの細胞・組織・臓器まで分化誘導する技術が十分ではない（未分化の細胞を生体に移植すると、奇形腫という腫瘍を形成し、目的の機能を果たせない）といった技術上の問題もあり、実用化への道を阻む原因となっている。このような難しい状況ゆえに、ジェロン社の臨床試験に寄せる各国の期待は極めて大きい。「本当に臨床試験を行えるのか」、「もし失敗したら、後が続かなくなる」。複雑な思いを胸に、研究者、医師、患者、その家族が状況を見守っている。

一方、iPS 細胞には、ES 細胞のような倫理問題はなく、株の樹立も比較的容易だという利点がある。ただし、手法や技術の問題、生物学的な基盤解明の問題が残されている。例えば、人工的に導入したがん遺伝子による「がん化の危険性」を完全に回避できていない。がん遺伝子を導入しない手法も開発されているが、現状では株樹立の成功率が極めて低い。また、「体細胞を完全に再プログラム化する技術」、「再プログラム化の分子機構」、「片親の遺伝子のみが発現するゲノムインプリンティングの機構」などにも、多くの課題や謎が残されている。特定の細胞・組織・臓器へ分化誘導する技術にも、ES 細胞と同様の問題がある。

さらに最近、ES 細胞と iPS 細胞とでは、遺伝子のメチル化などの「エピジェネティックなゲノム制御」にさまざまな違いがあることが報告され、エピジェネティック制御機構の解明の必要性も重要視され始めている。

### できるところから実用化

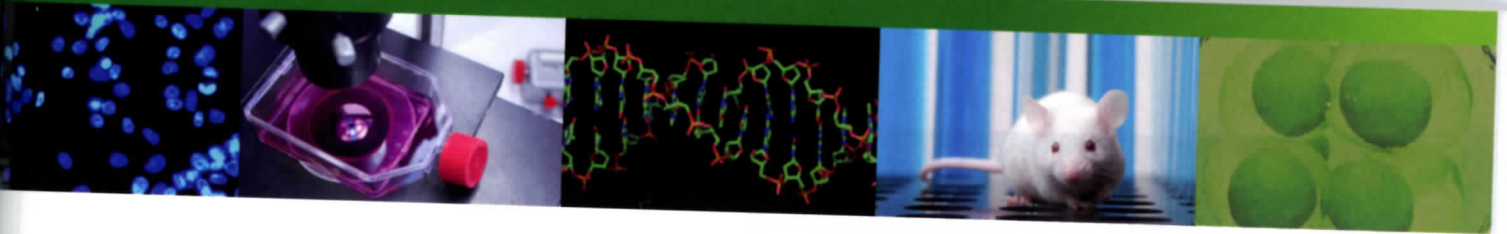
一方、以前より、ES 細胞や iPS 細胞とは別に、造血幹細胞を対象にした研究が進められてきた。多能性維持、さまざま

な血球細胞への分化、免疫といった各機構の分子メカニズムの解明、骨髄移植の手法や技術の開発などである。そして、こうした造血幹細胞研究が牽引し、消化管、肝臓、膵臓、脳、筋肉、脂肪組織など、体内のさまざまな組織や臓器でも幹細胞（組織幹細胞）が存在することが確認されてきた。

組織幹細胞には、ES 細胞や iPS 細胞にみられるほどの多能性や自己複製能はない。が、ES 細胞のような倫理問題も、iPS 細胞のようながん化や再プログラム化の問題も、あるいは両者に共通する分化誘導やエピジェノミック制御の問題もない。「それなら、まず、組織幹細胞を実用化することで再生医療への道を作ればよいのではないか」。臨床医を中心に、そう考える研究者が少なくない。

例えば、東京大学医学部形成外科の吉村浩太郎講師は、脂肪組織中に含まれる脂肪幹細胞や脂肪前駆細胞を用いて、がんなどの手術で失われた乳房や顔面などの組織復元を既に実用化している。脂肪幹細胞は、1990 年代の終わりに、米国ピッツバーグ大学の研究チームによって同定された。「脂肪幹細胞の存在について、研究者たちは当初、半信半疑でした。やがて、複数のチームによって、確かに脂肪、血管、筋肉などに分化しうる幹細胞であることが報告されるようになり、今では、その有用性が広く認知されるようになりました」。そう話す吉村講師は、患者の大腿などから血管間質細胞群、脂肪細胞、脂肪幹（前駆）細胞を含む脂肪組織を採取し、脂肪細胞と脂肪幹（前駆）細胞の割合を調整して、組織を復元したい部位に自家移植する手法（CAL 法）を開発（\*1）。既に 500 例以上の患者に施術し、復元に成功しているという。「患者さん自身の脂肪幹細胞なので、拒絶反応の心配はありません。幹細胞とともに脂肪細胞も移植するのは、これから死んでいく脂肪細胞や血管内皮細胞が、幹細胞に対して、自分と同方向に分化させるようなシグナルを出すからです。移植する細胞の数は復元の程度によりますが、生着した脂肪幹細胞は、一生、複製と分化を繰り返し、組織を維持します」と吉村講師は語る。

CAL 法を「再生医療のはじめの一步」と考える吉村講師は、次のステップとして、上皮系の幹細胞から毛根や汗腺などの皮膚付属器の細胞を作製する研究を始めている。現在の皮膚移植では、こうした付属器は再生されないため、患者は「毛が生えず、汗をかけない」という不都合を背負うことになる。ほかに実用化に近いものとして、乳歯や親知らずなどに存在



する歯髄幹細胞を用いた歯の再生、網膜幹細胞による網膜色素変性疾患治療、角膜幹細胞や口腔粘膜上皮幹細胞を用いた移植用角膜の開発、骨髄由来の血管内皮前駆細胞を用いた閉塞性動脈硬化症などの治療、などがある。

### ヒトの臓器を動物体内で丸ごと再生

もちろん、直ちに実用化が難しいといっても、ES細胞やiPS細胞の再生医療研究が、足踏み状態にあるわけではない。状況はむしろその逆で、少し先を見据えた研究が展開されている。

これまで造血幹細胞研究の第一人者として活躍してきた東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センターの中内啓光教授は、約10年前から「三次元の構造をもつ臓器」の再生にも取り組みたいと考え、肝臓の幹細胞を同定・純化する独自の手法を開発して、分化誘導研究を続けてきた。その結果、肝臓の幹細胞から、肝細胞や胆管など、肝臓を構成するさまざまな細胞に分化させることに成功した。「ただし、試験管内で分化した細胞はいつまでたっても平面のまま、三次元構造にはなりません。これでは、生体への治療には使えません」と中内教授。

熟慮の末、中内教授はある画期的な方法を思いついた。1993年に開発された「胚盤胞補完法」という手法を用いれば、ブタなどの動物にヒトの膵臓や肝臓を丸ごと作らせることができるのではないかと考えたのである。胚盤胞補完法は、リンパ球を作れないマウスの受精卵（胚盤胞）に正常なマウスのES細胞を注入し、「リンパ球はすべてES細胞由来」となるキメラマウスを作るのに使われた方法だった。

早速中内教授は、膵臓が形成されない「Pdx1 遺伝子のノックアウトマウス」の受精卵を胚盤胞にまで培養し、正常マウスのiPS細胞を注入して、代理母マウスの子宮内で育てた。「すると、約70パーセント以上の確率で、元気なキメラマウスが生まれました。これらのキメラマウスを調べたところ、きちんと膵臓が存在し、しかも完全にiPS細胞由来であること、インスリンを分泌する正常な膵臓として機能することがわかりました（\*2）」と中内教授。

次に、これまで報告がなかったマウスとラットという異種間でのキメラ動物の作製を考え、マウスの胚盤胞にラットのiPS細胞を、逆にラットの胚盤胞にマウスのiPS細胞を移入する実験を試みた。「どちらの場合でもキメラ動物を

明視野像

EGFP 蛍光像

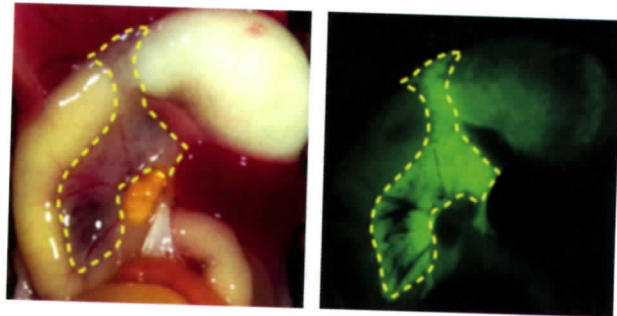


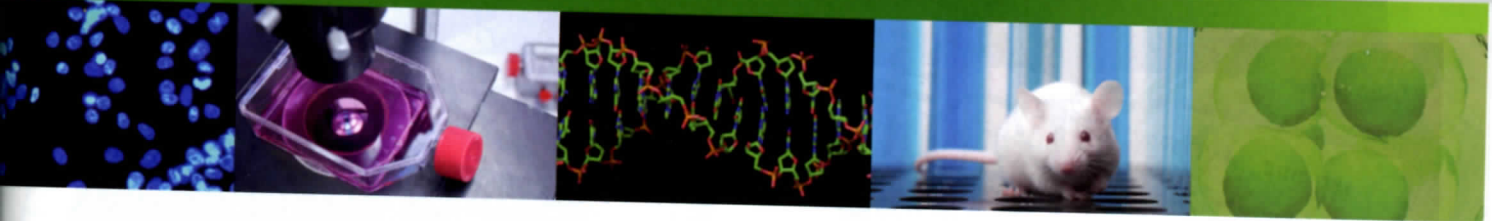
図1: Pdx1 ノックアウトマウス体内に作られた、マウス iPS 細胞由来の膵臓

(提供: 東京大学医科学研究所 中内啓光教授)

得ることができました。興味深いことに、生まれてきたキメラ動物の大きさは『使われた胚盤胞と代理母』によって規定されていて、マウスの代理母から生まれたものはほぼマウスのサイズ、ラットの代理母から生まれたものはラットと同様な大きさでした（\*2）」と中内教授。

さらに、正常なラットのiPS細胞を、Pdx1 ノックアウトマウスの胚盤胞に注入し、マウスの個体内でラットの膵臓が形成されるかを検討した。すると、マウス-ラットキメラとして生まれるのが約20パーセント、成体にまで成長するのは数パーセントだったが、膵臓は完全にラットのiPS細胞由来だったという（\*2）。「一連の成果は、ヒトiPS細胞を使って、ブタなどの大型の動物にヒトの膵臓を作らせることが可能だということを強く示唆しています」。そうコメントする中内教授は、既にブタなどの大型動物でも異種間キメラが作製可能かどうかを研究し始めている。なお、中内教授らは、ES細胞を用いても、同様の結果になることを確かめている。

日本には、約800万人もの糖尿病患者がいるとされる。糖尿病は、進行して糖尿病性腎症を併発すると、やがて人工透析や腎臓移植が必要になる。こうした治療は患者にとって大きな負担になるだけでなく、医療費を増大させる要因にもなっている。「近い将来、動物に作らせたヒトの膵臓を患者に移植できることが確かめられれば、と思っています」。中内教授はそう意気込む。



## 再生医療以外の目的にも

ここまで、あくまでも再生医療への応用について述べてきたが、「幹細胞を創薬スクリーニングのための細胞供給源として使おう」との動きも活発になっている。スクリーニング目的であれば、倫理問題や細胞分化の程度が再生医療ほど厳密に問われることはない。「ES細胞やiPS細胞の実用化として、こちらを先にめざすべきだと考えるようになりました」。かつて、中内教授に師事した、横浜市立大学大学院医学研究科臓器再生医学の谷口英樹教授は、そう話す。

谷口教授が大学院生だった1980年代は、「肝臓には幹細胞は存在しない」とされていた。そんな時代に、造血幹細胞研究で開発された手法とマーカーを用いて、マウスの肝臓から幹細胞を分離・同定する研究に着手。その後4年をかけて、肝臓の幹細胞のみを選択的分離法と、未分化状態を維持したまま培養する技術を確立した(3)。しかしながら谷口教授は、こういう。「骨髄移植をモデルに、肝臓の幹細胞を生体内に移植することで肝臓を再生させたい」と思い、研究を続けてきましたが、臨床応用には大きな障壁があると感じました。体内で肝臓の幹細胞を分化誘導するには、既存の肝臓を強力な薬剤で破壊する必要があり、マウスの実験ではなんとか可能なものの、ヒトでは不可能だったという。

そこで、4年前に研究の方向を変えることを決断。ヒトの肝臓の幹細胞やiPS細胞を肝臓細胞に分化誘導し、創薬研究における薬の安全性や効能の試験を、高精度かつ安定的に行うために使えるシステムを作ろうと考えた。現在市販されている、幹細胞に由来しない創薬スクリーニング用ヒト肝臓細胞は、品質にムラがある、大量に供給したりするのが難しい、といった問題がある。「実用化は、段階的にしたいと考えています。第一世代の細胞は、初期段階の創薬スクリーニングに使う、ある程度の分化と機能をもつレベルを想定しています。第二世代は、薬物代謝酵素などの発現量や誘導能が肝臓細胞と同等なもの。最終目標の第三世代は、細胞膜に埋まるトランスポーターの局在などがほぼ完全な肝臓の細胞です」と谷口教授。第三段階までには5年以上かかるとのことだが、実現すれば、格段に高精度な毒性、代謝、効能などのスクリーニングを極めて安価にできるようになると期待される。



図2: マウス-ラット異種動物間キメラ

左から順に、マウス代理母から生まれたキメラ、ラット代理母から生まれたキメラ、野生型ラット、野生型マウス。

(提供: 東京大学医科学研究所 中内啓光教授)

## カギは、オールジャパン体制作り

このようにして、国内で多角的に進められている幹細胞研究だが、世界的な競争は日々激しさを増している。山中教授は「日本が勝ち残るには、オールジャパン体制作りが重要」と強調し、政府はこの春、京都大学にiPS研究の拠点となる「iPS細胞研究所(CiRA)」を設立した。さらに政府は、2010年度の科学技術振興費を27年ぶりに削減したにもかかわらず、iPS細胞研究関連予算としては約60億円を拠出した。既に、文部科学省による「再生医療の実現化プロジェクト(代表は、山中教授、岡野教授、中内教授、理化学研究所の笹井芳樹博士)」などが走り始めている。

「オールジャパン体制」について異を唱える研究者は少ないと思われるが、政府の予算配分については「iPS細胞研究に偏りすぎ」との見方もある。長引く不況の下では、どこかに重点を置いて予算配分するしかないのだろうが、なんとか工夫することで、ES細胞、iPS細胞、組織幹細胞をバランスよくカバーしたオールジャパン体制が整うことを期待したい。

### 【参考文献】

1. Yoshimura K. *et al.*, *Regen Med* **4** 265-73 (2009).
2. Kobayashi, T., *et al.* *Cell* **142** 676-678 (2010).
3. Suzuki A, Taniguchi H, *et al.*, *Hepatology* **32** 1230-1239 (2000), *J Cell Biol* **156** 173-184 (2002).